第 41 卷 第 4 期 昆 虫 学 报 Vol. 41, No. 4
1998 年 11 月 ACTA ENTOMOLOGICA SINICA Nov., 1998

昆虫抗药性靶标不敏感机制的研究进展

李显春　王荫长
（南京农业大学植保系，南京　210095）

靶标不敏感(target site insensitivity)是昆虫对杀虫剂产生抗药性的一个极为重要的生化机制，已在多种昆虫对多种杀虫剂的抗性中发现[1,2]，最著名的便是：变构乙酰胆碱酯酶（altered acetylcholin esterase，简称变构 AChE）对有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂的抗性、不敏感的 Na^+ 通道（insensitive sodium channel）对 DDT 和除虫菊酯的击倒抗性(knock down resistance，kdr)，以及不敏感的 γ-氨基丁酸受体（insensitive GABA receptor）对环戊二烯类杀虫剂和 γ-六六六的抗性[3]。80 年代以来，众多学者利用各种技术尤其是分子生物学技术对上述靶标及其不敏感的实质进行了研究，本文简要综述了这方面的研究进展。

1　不敏感的 Na^+ 通道

1.1　DDT 和除虫菊酯对 Na^+ 通道的作用

神经生理学研究表明，DDT 和拟除虫菊酯的作用机制是干扰电位依赖的 Na^+ 通道闸门开闭的动力学，使得 Na^+ 通道延迟关闭，引起重复后放（repetitive after discharge）和突触传递的阻断[4]。Na^+ 通道是一个结合在神经轴突膜上的大型糖基化蛋白质，存在关闭、开启和失活三种空间构型，其构型之间的转变受神经膜电位变化的控制，也受到药物的影响。Osbrone[5]提出 Na^+ 通道上有三个药物结合部位，分别称为部位 Ⅰ、Ⅱ 和 Ⅲ。部位 Ⅰ 位于 Na^+ 通道的外部孔道，可被河豚毒素（tetrodotoxin）和石房蛤毒素(saxitoxin）特异性占领，并阻断 Na^+ 运转；部位 Ⅱ 可被藜芦碱（veratridine)、蟾鱼毒素(batrachtoxin)、乌头碱(aconitine)和虾蚌毒素(grayanoxin)等毒素结合占领，影响 Na^+ 通道失活门和活化门的动力学，部位 Ⅱ 改变构型，阻断失活和产生持久的活化；部位 Ⅲ 可被蝎毒素（scorpiontoxin）和海白头翁毒素（seaanemonetoxin）结合占领，增强部位 Ⅱ 药物引起的持久活化作用。但近年来的研究发现，Na^+ 通道的药物结合部位（或称钠绥道上的受体）并非如此简单，目前已肯定的药物结合部分已有 6 个[6]：部位 Ⅰ 位于 Na^+ 通道外侧疏水性区域，河豚毒素、石房蛤毒素和 guanidiniumtoxins，起阻断 Na^+ 流作用；部位 Ⅲ 位于 Na^+ 通道内侧的亲水性的失活门上，可被海白翁毒素和蝎子 α-多肽毒素占领；部位 Ⅳ 位于 Na^+ 通道内侧亲水性的活化门上，可被 centuroides β-toxins 占领；部位 Ⅱ、Ⅴ 和 Ⅵ 均位于 Na^+ 通道内外两侧之间的疏水性区域，占领这三个位点的毒素均为脂溶性毒素，起活化 Na^+ 通道的作用。占领部位 Ⅱ 的毒素有乌头碱、藜芦碱、蟾鱼毒素、虾蚌毒素、生物碱（alkaloids）t 和 N-烷基酰胺类（N-alkylamides)；占领部位 Ⅴ 的有 brevetoxin

1996-01-22 收稿，1997-09-19 收修改稿

(BVTX)和 ciguatoxin(CTX);占领部位Ⅵ的则是拟除虫菊酯和 DDT,它们延迟 Na^+ 通道的失活过程,产生持久活化和重复后放。对拟除虫菊酯产生抗性的 kdr 家蝇品系对藜芦碱、乌头碱和虾蚌毒素产生抗性,但对其它部位Ⅱ毒素却无抗性,说明部位Ⅵ与部位Ⅱ在空间上是紧密偶联的,部位Ⅱ是由几个相关但不同的结合位点组成。

1.2 Na^+通道敏感度降低产生的 kdr 抗性

由于 Na^+ 通道变得不敏感而对 DDT 和拟除虫菊酯的快速击倒和致死作用产生的 kdr 抗性最早是在家蝇 *Musca domestica* 成虫中观察到的[7],并从家蝇染色体Ⅲ上分离到控制 kdr 抗性的几个等位基因如 kdr 和 super-kdr 基因[8,9],且 kdr 抗性在家蝇幼虫和成虫期均可表达[10]。随后采用增效剂增效作用,代谢抗性机制,对 DDT 和拟除虫菊酯的交互抗性测定和处理初期中毒症状行为的观察等间接方法及神经电生理学直接方法证实德国蜚蠊 *Blattella germanica*、微小牛蜱 *Boophilus microplus*、斯氏按蚊 *Anopheles stephensi*、棉蚜 *Aphis gossypii*、海灰翅夜蛾 *Spodoptera littoralis*、烟芽夜蛾 *Heliothis virescens*、埃及伊蚊 *Aedes aegypti*、致乏库蚊 *Culex quinquefasciatus*、甜菜夜蛾 *S. exigua* 和植绥螨 *Amblysieus fallacis*、棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 等害虫也具有 kdr 型抗性[1,3,11,12]。

总结上述 kdr 型抗性昆虫的研究结果,发现 kdr 抗性通常具有以下特点:(1) kdr 基因为隐性基因,只有纯合子状态才表现出抗性,杂后子状态并不表现抗性;(2) kdr 基因对 DDT、拟除虫菊酯和 Na^+ 通道活化剂乌头碱 aconitine 引起神经敏感度降低;(3) 对大多数拟除虫菊酯和 DDT 有交互抗性;(4) 对拟除虫菊酯产生很高的抗性,特别是 super-kdr 基因存在的情况下。

1.3 Na^+通道不敏感的生化基础

Na^+ 通道如何变得对 DDT 和拟除虫菊酯不再敏感而产生 kdr 抗性,这可能涉及到下述机制中的一种或它们的联合作用:(1) 神经膜上 Na^+ 通道密度降低;(2) Na^+ 通道周围神经膜磷酯类发生改变;(3)DDT 和拟除虫菊酯在 Na^+ 通道上的结合位点区域发生改变,因而 DDT 和拟除虫菊酯与 Na^+ 通道的结合亲合性降低[13]。Rossignol[14]、Liu and Plapp[15]及 Bull[16]报道利用放射标记的 Na^+ 通道部位Ⅰ药物[^{3}H]Saxitoxin 与敏感和 kdr 抗性家蝇的头部神经膜结合,kdr 家蝇的 Na^+ 通道量下降了 40%～60%,但 Grubs 等[13]和 Pauron 等[17]发现敏感和 kdr 抗性家蝇间不存在 Na^+ 通道数的差异。在 kdr 抗性烟青虫[18]和德国蜚蠊[19]中也不存在 Na^+ 通道数的降低。不过在果蝇 *Drosophila melanogaster* nap^{ts}(指对温度敏感无作用品系)却发现了较低的 Na^+ 通道密度[3]。在 kdr 和 super-kdr 家蝇中,还发现神经膜脂的组成发生了变化,它们头部匀浆液中不饱和脂肪酸/饱和脂肪酸比值明显低于敏感品系[1],但这一脂构成变化是引起 Na^+ 通道不敏感的原因,还是作为不敏感 Na^+ 通道完成正常神经功能的补偿尚不明确[3]。Pauron 等[17]的研究则表明 DDT 和拟除虫菊酯 Na^+ 通道结合位点的质变或立体构象偶联变化所致的结合亲合性降低是家蝇 kdr 抗性的原因,而 Church 和 Knowles[20]则发现拟除虫菊酯在 Na^+ 通道上结合位点的亲合性降低至少是烟芽夜蛾神经不敏感性的部分原因。

1.4 Na^+通道不敏感的分子基础

Na^+ 通道作为一个大型膜载蛋白,在脊椎动物体内由一个 α 亚单位和两个 β 亚单位

组成，在非脊椎动物中则由 α 亚单位组成。α 亚单位大约由 2 000 个氨基酸组成，分子量约 260kD，在不同动物之间具有结构相似性[3]。Salkeff 等[21,22]根据电鳗（electric eel）Na^+通道 cDNA 基因制备的探针，从被称为 DSCI 或 Sch 的果蝇中率先分离出了一个公认的昆虫 Na^+通道基因，该基因象脊椎动物 Na^+通道基因一样，编码的 Na^+通道由四个间断的肽链单位组成（分别为 Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ），每个单位含有 6 个不同的氨基酸片断（分别为 S1、S2、S3、S4、S5、S6），并形成跨膜的螺旋。Loughney 等[23]接着又从果蝇中分离出了第二个昆虫 Na^+通道基因称为 *para* 基因。Ramaswami 和 Tanouye[24]则获得了这两种 Na^+通道基因存在的证据。使用由果蝇 *para* 基因位点合成的引物对家蝇[25]和 7 种其它昆虫及一种蜘蛛[26]的 Na^+通道基因片段进行了 PCR 扩增，因此得出的氨基酸序列表明是完全保守的或仅有一个丝氨酸对苏氨酸的保守性取代。

使用 Sch 克隆从果蝇基因文库中分离出 sch 基因，发现抗性果蝇 Na^+通道 Ⅲ S5 到 Ⅲ S6 之间有一个活跃的突变，使得天冬氨酸被天冬酰氨取代[27]。Taylor[28]使用根据果蝇 *para* α-亚单位基因的第四跨膜肽链的部分序列合成的 PCR 引物从烟芽夜蛾基因库中扩增了 Na^+通道片段，并用该片段从基因库中筛选出了一个被称为 hscp 的 8kb 克隆，获得的证据表明烟芽夜蛾的拟菊酯抗性与 *para* 类似的 Na^+通道基因是相联系的。Dong 和 Scott[29]进行了类似的研究，他们从德国蜚蠊中分离出了一个 *para* 同源 Na^+通道基因的 120 bp DNA 片段，以此片段为探针，对敏感和 kdr 抗性蜚蠊 *para* 同源 Na^+通道基因的 RFLP（限制酶切片段多型性）进行分析鉴定，遗传学证据显示 kdr 抗性基因位点和 *para* 同源 Na^+通道基因是一致的或紧密连锁的。此外，Williamson 等[30]也对家蝇 Na^+通道基因的一部分进行了 cDNA 克隆，称之为 Msc，该基因克隆与果蝇 *para* Na^+通道基因异常相似，有 99%的氨基酸相同，对敏感家蝇、kdr 和 super-kdr 家蝇品系 Msc 位点 RFLP 的鉴定分析和有控杂交表明，kdr 抗性与此 Na^+通道基因是密切相关的。

总之，目前 Na^+通道基因部分片段克隆的分离研究均表明 kdr 抗性位点与 Na^+通道基因位置是一致的或紧密连锁的。下一步的工作将是从抗感昆虫体内分离出全序列 Na^+通道基因，以便确定抗性相关的突变位点和进行基因表达的研究。

2 变构 AChE

2.1 变构 AChE 的生化基础

乙酰胆碱酯酶（AChE）是有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂的作用靶标。它们通过抑制中枢神经系统（CNS）中 AChE 对神经递质 ACh 的水解作用干扰和最终阻断突触传导。Smissaet[31]最早发现有机磷抗性螨的 AChE 对有机磷和氨基甲酸酯的抑制不敏感，随后便在抗性微小牛蜱，黑尾叶蝉 *Nephotettix cincticeps*，褐飞虱 *Nilaparvata lugens*，家蝇，库蚊 *Culex pipiens*，烟芽夜蛾，果蝇及马铃薯甲虫 *Leptinotarsa decemlineata* 等多种昆虫中发现不敏感的 AChE[1,3]。

不敏感 AChE 既可能是抗性昆虫 AChE 酶量过高所致，也可能是 AChE 发生了性质的改变。[32]。Fournier 利用 P 因子构建了几个 AChE 表达量不同的果蝇品系，发现这些品系对马拉硫磷和敌敌畏的抗性与其相应的中枢神经系统中 AChE 量成正相关。

不过在绝大多数情况下，抗性是由 AChE 的质变——即变构 AChE 引起的。在家蝇、微小牛蜱、按蚊、蚜虫、螨类等害虫中就监测到了几种不敏感 AChE，每种突变 AChE 对各种有机磷和氨基甲酸酯产生不同类型的敏感性，即产生不同的交互抗性[1,3]。酶动力学研究表明，变构 AChE 与抑制剂复合体的解离常数 k*dr* 值通常增加，磷酰化速度降低，或氨基甲酰化变慢，对抑制剂的双分子速率常数 *K*i 降低，抑制中浓度 I_{50} 升高，脱氨基甲酰化速度增加等变化[33~35]。此外，变构 AChE 对抑制剂的不敏感还常常伴随着对其底物乙酰胆碱水解能力和亲和性的降低，即变构 AChE 的米氏常数 *K*m 升高[36]，但也发现一些抗性害虫的变构 AChE 对底物的水解能力和亲和力保持不变[37]，甚至反而增加[38]。上述 AChE 变构对 ACh 的三种影响说明不同昆虫 AChE 变构的部位是不同的：有的变构 AChE 是因为其活性部位即催化部位和阴离子部位发生了结构改变，这种改变对底物和杀虫剂的影响应该是类似的，因而对底物的水解能力也随之下降；其它的变构 AChE 则可能是在阴离子部位之外的结合部位如疏水性部位，或催化部位与结合部位之间的距离发生改变，这类改变造成的间接影响，底物和杀虫剂间不一定具有趋同效应，因此对底物的水解能力可能不变甚至增加。许多试验还证明抗性昆虫的变构 AChE 对底物水解作用失去了正常昆虫 AChE 具有的高浓度底物抑制的性质，甚至高浓度底物反而活化抗性昆虫的变构 AChE[36]。

除了 AChE 质变和量变导致对有机磷和氨基甲酸酯的抗性，近年来还发现有苜蓿蓟马 *Frankliniella occidentalis* 大量存在丁酰胆碱酯酶（BuChE），其活性超过 AChE，作为杀虫剂磷酰化的另一场所，起着保护 AChE 的作用，但抗性品系的 BuChE 与敏感品系的相比，对地亚农的敏感性低 170 倍[37,39]。

2.2 变构 AChE 的分子基础

AChE 是一个分子量约 160kD 的蛋白质，由一个基因编码，可经转录表达或表达后修饰、聚合形成不同的分子型。昆虫的 AChE 均为球状的 G 型，以两亲性的 G2 型为主，但尚不知道 AChE 的分子型与昆虫的抗药性是否相关。

Hall 和 Spierer[40]首先对果蝇的 AChE 基因进行克隆和序列分析，Fournier 等[41,42]则进一步提出了果蝇 AChE 的分子结构模型（即 G2 型）：AChE 是由两个活性单位共价键连接（通过两个 55kD 多肽间的二硫键）的二聚体蛋白，每个活性单位由两个非共价连接的多肽（55kD 和 16kD）组成，酯动部位于 55kD 多肽，阴离子部位则在 16kD 多肽上，整个 AChE 分子通过 55kD C-末端的糖酯与神经膜相连。在此基础上，Fournier 等[43]从马拉硫磷抗性果蝇品系 MII19 中克隆了突变 AChE 基因，经与敏感果蝇 AChE 基因比较，发现有一个点突变（A 取代了 T），导致了第 368 氨基酸位置上的苯丙氨酸（Phe）被酪氨酸置换，并证实 Phe 368 与果蝇 AChE 的催化特性有关。Mutero[44]在体外表达果蝇 AChE 时发现第 109 位的酪氨酸被天冬氨酸突变也可使 AChE 对几种有机磷的敏感性下降。此外，在果蝇野外抗性品系中，也发现了第 368 位的苯丙氨酸突变及另外三个突变位点，即 115 位的苯丙氨酸变为丝氨酸，199 位异亮氨酸突变为缬氨酸（或苏氨酸，因品系而异）；303 位的甘氨酸突变为丙氨酸，以及这几种突变在单个变构 AChE 等位基因的组合。每个突变位点都产生一个不同抗性型的变构 AChE，但仅含单个突变位点的 AChE

等位基因引起的抗性水平是不高的，而在 AChE 基因内重组有两个或两个以上突变位点的变构 AChE 产生的抗性则明显增加[45,46]。

综上所述，昆虫可因 AChE 酶量的增加或 BuChE 的大量存在及敏感性降低对有机磷和氨基甲酸酯类产生抗性，但更为重要和普遍的是乙酰胆碱酯酶因变构而对有机磷和氨基甲酸酯不敏感。AChE 变构的原因是 AChE 结构基因发生了多点突变，且同一品系内突变点的增加与重组，对抗性有显著的强化作用。

3 不敏感的 γ-氨基丁酸（GABA）受体

3.1 GABA 受体及环戊二烯和 γ-六六六对 GABA 受体的作用

80 年代以前，环戊二烯类杀虫剂和 γ-六六六的公认靶标部位是胆碱突触的前突触末端，通过抑制 $Ca^{2+}Mg^{2+}$ATP 酶使 Ca^{2+}不能送出前突触末端膜外，或刺激前突触膜对 Ca^{2+}的吸收，或抑制 Ca^{2+}被膜上蛋白质结合，使前突触末端膜内 Ca^{2+}浓度增高，从而促进乙酰胆碱小囊释放，使后突触长期处于兴奋状态，并最终阻断突触传递[5]。近年来，Ghisuddin 和 Matsumura[47]、Tanaka 等[48]、Casida 等[49]、Cohen 和 Casida[50]都发现 γ-六六六和环戊二烯也作用于 GABA 受体氯离子通道复合体，象木防己苦毒素（picrotoxin）一样，对 GABA 引起的氯离子内流产生拮抗作用，阻断 γ-GABA 的抑制作用而产生过度兴奋症状。目前，已经记述了昆虫 GABA 受体的特征，阐明了其五类配位体药物结合位点（包括激活剂和昏厥剂），提出了假设模型，但尚有许多工作有待研究[51,52]。

3.2 GABA 受体不敏感的基础

早在未发现 GABA 受体是环戊二烯和 γ-六六六的作用靶标以前，Brook[53]就提出环戊二烯及 γ-六六六抗性的机理是靶标不敏感。Kadous 等[54]的神经膜生理学研究首先证实环戊二烯抗性蜚蠊中枢神经系统对狄氏剂的神经兴奋作用不敏感，并对已知的 GABA 受体拮抗剂木防己苦毒素在神经敏感水平和生测毒力水平上均存在交互抗生，随后在环戊二烯抗性果蝇 *Drosophila melanogaster* 成虫，赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* 幼虫和 *Hypothenemus hampei* 也证实了神经水平的不敏感[55~57]，其原因是不敏感的 GABA 受体对环戊二烯类药剂（包括木防已苦毒素）的结合亲和性降低[54]。

Ffrench－Constant 和 Roush[58]以环戊二烯果蝇抗性品系为材料，首先对 GABA 受体不敏感的分子机制进行研究，发现引起抗性的基因是位于果蝇 Ⅲ 号染色体 25 unit 66F 亚区内的 *Rdl* 基因，并进行了克隆和核苷酸序列分析和翻译，结果表明翻译产物和氨基酸序列与脊椎动物 GABA 受体非常相似。为了证实 *Rdl* 确实是果蝇环戊二烯抗性相关基因，Ffrench－Constant[59]将敏感基因转移抗性果蝇 Ⅱ 号染色体（原来的 *Rdl* 基因位于 Ⅲ 号染色体）上，抗性个体对环戊二烯的敏感性得到了恢复，并发现敏感性恢复的程度与基因数量无关，而是与抗性与敏感基因的比例相关的，这与敏感性和果蝇体内的总 GABA 受体数量无关，而与敏感和不敏感的 GABA 受体的比例相关是一致的。进一步的研究发现，果蝇抗性基因 *Rdl* 与敏感基因相比有一个点突变，使得第 302 氨基酸位置上的丙氨酸突变成了丝氨酸[60]，而且这一氨基酸替换在蜚蠊、家蝇、赤拟谷盗、埃及伊蚊、*Hy-*

pothenemus hampei 等多种昆虫对环戊二烯的抗性中具有保守性，为环戊二烯抗感昆虫个体 PCR 监测区分方法的建立奠定了基础[56,57,61]。

4 小结

综上所述，靶标抗性的生化基础往往是产生了对杀虫剂作用不敏感的新靶标，其分子基础则是抗性昆虫靶标的结构基因发生了单点（如 GABA 受体）或多点突变 (AChE)，其中 GABA 受体的突变是保守性的，而 AChE 的突变则是因虫种和品系而异。至于 Na^+通道，已发现有结构基因点突变产生不敏感的 Na^+通道，但这是否为唯一的和普遍的机制及 Na^+通道基因的表达是否参与抗性（使 Na^+通道数减少）？目前尚不能肯定，有待研究证实。

参 考 文 献

1 Oppenoorth F J. Biochemistry and genetics of insecticide resistance. In: Kerhut G A, Gileert L I eds. Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology, Oxford: Pergamon Press, 1985, 12: 731～774

2 Sparks T C *et al*. The role of behavior in insecticide resiestance. Pest. Sci., 1989, 26 (4): 383～400

3 Soderlund D M *et al*. Molecular neurology: implications for insecticide action and resistance. Pest. Sci., 1989, 26 (4): 359～374

4 Lund A E. Insecticides: effects on the nervous system. In: Kerhut G A, Gilbert L I eds. Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and pharmacology, Oxford: Pergamon Press, 1985, 12: 9～56

5 Osborne M P. DDT, r-HCH and the Cyclodienes. In: Kerhut G A, Gilbert L I eds. Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology. Oxford: Pergamon Press, 1985, 12: 131～175

6 Osborne M P, Pepper D R. Molecular mechanisms of insecticide resistance. In: Mullen C A, Scott J G. eds. ACS Symposium, 1991, 17

7 Busvine J R. Mechanism of resistance to insecticides in houseflies. Nature, 1951, 168: 193～195

8 Farnham A W, Murray A W A, Sawicki R M *et al*. Characterizaton of the structure-activity relationship of kdr and two variants of super-kdr to pyrethroids in housefly (*Musca domestica* L.). Pestic. Sci., 1987, 19: 209～220

9 Sawicki R M. Unusual response of DDT-resistant houseflies to carbinol analogues of DDT. Nature, 1978, 275: 443～444

10 Pepper D R, Osborne M P. Electrophysiological identification of site-insensitive mechanisms in knockdown resistant strains (kdr, super-kdr) of the housefly larva (*Musca domestica*). Pestic Sci., 1993, 39: 279～286

11 唐振华，昆虫抗药性. 北京：农业出版社，1993：302～335

12 韩召军，王荫长，尤子平. 棉蚜对拟除虫菊酯类杀虫剂的抗性机理. 南京农业大学学报，1995，18 (3)：54～59

13 Grubs R E. Adams P M, Soderlund D M. Binding of [^{3}H] saxitoxin to head membrane preparations from susceptible and knockdown resistant houseflies. Pestic. Biochem. Physiol., 1988, 32: 217～223

14 Rossignol D P. Reduction in the number of nerve membrane sodium channels in pyrethroid resistant houseflies. Pestic. Biochem. Physiol. 1988, 32: 146～152

15 Liu M L, Plapp F W Jr. Down-regulation of saxitoxin binding in houseflies by pyrethroids and other insecticides. Pestic. Biochem. Physiol., 1991, 42: 232～237

16 Bull D L. Target site and enzyme changes associated with selection of subcolonies of a multiresistant house fly strain with methyl parathion or permethrin. Pestic. Biochem. Physiol., 1992, 42, 211～226

17 Pauron D *et al*. Pyrethroid receptor in the insect Na^+ channel: Alteration of site properties in pyrethroid-resistant flies. Biochem, 1989, 28: 1 673～～1 677

18 Church C J, Knowles C O. Relationship between pyrethroid enhanced batrachotoxin A 20-α-benzoate binding and pyrethroid toxicity to susceptible and resistant tobacco budworm moths *Heliothis virescens*. Comp. Biochem. Physiol., 1992, 103C: 495～498

19 Dong K, Scott J G. Neuropharmacology and genetics of the kdr -type resistance in the German cockroach, *Blatella germanica* (L.). Pestic. Biochem. Physiol., 1991, 41: 159～169

20 Church C J, Knowles C O. Relationship between pyrethroid enhanced batrachotoxin A 20-α-benzoate binding and pyrethroid toxicity to susceptible and resistant bobacco budworm moths *Heliothis virescens*. Comp. Biochem. Physiol., 1993, 104C: 279～287

21 Salkoff L *et al*. Genomic organization and deduced amino acid sequence of a putative sodium channel gene in *Drosophila*. Science, 1987, 237: 744～749

22 Salkoff L *et al*. Nucleotide sequence of the putative sodium channel gene from *Drosophila* : the four homology domains. Nucleic Acids Res., 1987, 8 569～8 572

23 Loughney K, Kreber R, Granetzky B. Molecular analysis of the *para* locus, a sodium channel gene in *Drosphila*. Cell, 1989, 1 143～1 154

24 Ramaswami M, Tanouye M A. Two sodium-channel genes in *Drosophila*: Implications for channel diversity. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 2 079～2 082

25 Knipple D C, Pavne L L, Soderlund D M. PCR-generated sodium channel gene probe for the housefly. Arch. Insect Biochem. Physiol., 1991, 16: 45～53

26 Doyle K E, Knipple D C. PCR-based phylogenetic walking; isolation of *para*-homologous gene sequences from seven insect species and an arachnid. Insect Biochem., 1991, 21: 689～696

27 Amichot M *et al*. Target modification as a molecular mechanism of pyrethroid resistance in *Drosophila melanogaster*. Pestic. Biochem. Physiol., 1992, 44, 183～190

28 Taylor M F *et al*. Linkage of pyrethroid insecticide resistance to a sodium channel locus in the tobacco budworm. Insect Biochem. Molec. Biol., 1993, 7: 763～775

29 Dong K, Scott J G. Linkage of *kdr* -type resistance and the *para* -homologous sodium channel gene in German cockroaches (*Blattella germanica*). Insect Biochem. Molec. Biol., 1994, 24: 647～654

30 Williamson M S, Denholm I, Bell C A *et al*. Cloning of a housefly sodium channel gene linked to pyrethroid resistance. In: Abstr. Second Int. Symp. Mol. Insect Sci., 1993, 182

31 Smissaert H R. Cholinesterase inhibition of spider mites susceptible and resistant to organophosphate. Science, 1964, 143: 129～131

32 Fouenier D, Bride J M, Hoffmann F *et al*. Acetylcholinesterase: Two types of modifications confer resistant to insecticides. J. Biol. Chem., 1992, 267 (20): 1 4270～1 4274

33 Bull D L, Xu G. Characteristics of methylparathion resistance in housefly larvae. J. Economic. Entomol., 1995, 88 (1): 27～32

34 Gurban E M *et al*. Insecticide resistance in cotton aphid *Aphis gossypii* in the Sudan Gezir. Pestic. Sci., 1992, 35, (2): 101～107

35 Song S *et al*. Insecticide resistance.mechanism in the spiraea, *Aphis citricola* Korean J. Appl. Entomol., 1995, 34 (2): 89～94

36 Zhu K Y, Clark J M. Comparisons of kinetic properties of acetylcholeinesterase purified from azinphosmethys-susceptible and resistant strains of colorado potato beetle. Pestic. Biochem. and Physiol., 1995, 51 (1): 57～67

37 Zhao G Y *et al*. Diazinon resistance mechanisms in western flower thrips. Resistant Pest Management, 1993, 5: 2～6

38 Silver A R *et al*. A biochemical mechanism of resistance to pirimicarb in two glasshouse clones of *Aphis gossypii*. Pestic Sci., 1995, 43 (1): 21～29

39 Liu W *et al*. Substrate specificity and inhibitor sensitivity of cholinesterase in homogenates of western flower thrips. Pestic. Biochem. and Physiol., 1994, 49 (2): 121～131

40 Hall L M C, Spierer P. The Ache locus of *Drosophila melanogaster* : structural gene for acetylcholinesterase with an unusual 5' leader. EMBOJ., 1986, 5: 1 949～1 954

41 Fournier D *et al*. Acetylcholinesterase from *Drosophila melanogaster*: identification of two subunits encoded by the same gene. FEBS Letts., 1988a, 238～337

42 Fournier D *et al*. Acetylcholinesterase from *Musca domestica* and *Drosophila melanogster* are linked to membranes by a glycophospholipid anchor sensitive to an endogenous phospholipase. J. Neurochem., 1988b, 50, 1 158～1 163

43 Fournier D, Berge J B. Resistance to insecticide: Detection of a mutation in the acetylcholinesterase gene from *Drosophila melanogster*. In: Hagedon H H *et al*. eds. Molecular Insect Science, New York: Plenum Prenum Press, 1990, 302

44 Mutero A *et al*. Catalytic properties of cholinesterase: importance of tyrosine 109 in *Drosophila* protein. Neurore-port, 1992, 3: 39～42

45 Morton R A. Evolution of *Drosophila* insecticide resistance. Genome, 1993, 36: 1～7

46 Mutero A *et al*. Resistance-associated point mutations in insecticide-insensitive acetylcholinesterase. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 1994, 91: 5 922～5 926

47 Ghiasuddin S M, Matsumura F. Inhibition of gamma-aminobutyric acid (GABA) -incluced chloride uptake by gamma-BHC and heptachlor epoxide. Comp. Biochem. Physiol., 1982, 73L: 141～144

48 Tanala K, Scott J G, Matsumura F. Picrotoxinin receptor in the central nervous system of the Amertican coskroach: its role in the action of cyclodiene-type insecticides. Pestic Biochem, Physiol., 1984, 22: 117～127

49 Casida J E, Nicholsin R A, Palmer C J. Trioxabicyclooctanes as probes for the convulsant site of the GABA-gat-ed chloride channel in mammals and arthropods. In: Lunt G G ed. Molecular Basis of Drug and Pesticide Action. Elsevier, Amsterdam, 1988: 125～144

50 Cohen E, Casida J E. Effects of insecticides and GABAergic agent on a housefly [^{35}S] t-butylibicyl-cophosphorothionate binding site. Pestic. Biochem. Physiol., 1986, 25: 63～72

51 Lummis S C R. GABA receptors in insects. Comp. Biochem. Physiol., 1990, 95C: 1～8

52 Sattelle D B *et al*. Pharmacology of insect GABA receptors. Neurochem. Res., 1991, 16: 363～374

53 Brooks G T. Chlorinated insecticides, Vol II, Biological and Environmental Aspects., Cleveland: CRC Press, 1974: 3～62

54 Kadkous A A *et al*. Differences in the picrotoxin receptor between the cyclodiene-resistant and susceptible strains of German cockroach. Pestic. Biochem. Physiol., 1983, 19: 157～166

55 Ffrench-Constant R H *et al*. Isolation of dieldrin resistance from field populations of *Drodsophila melanogaster* (Diptera: Drosphilidae). J. Econ. Entomol., 1990, 83: 1 733～1 737

56 An dreev D *et al*. A PCR Diagnostic for cyclodiene insecticides resistance in the red flour beetle *Tribolium castaneum*. Pestic Sci., 1994, 41 (4): 345～350

57 Miyazaki M *et al*. DNA sequence and site of mutation of the GABA receptor of cyclodiene-resistant red flour beetle, *Tribolium castaneum*. Comp. Biochem. and Physiol. -B, Biochem. and Molecular Biology, 1995, 111 (3): 399～406

58 Ffrench-Constant R H, Roush R T. Gene mapping and cross-resistance in cyclodiene insecticide-resistant *Drosophila melanogaster* (Mg). Genet. Res. Camb., 1991, 57: 17～21

59 Ffrench-Constant R H *et al*. Molecular colning and transformation of cyclodiene resistance in *Drosophila*: An invertebrate gamma-aminobutyric acid subtype A receptor locus. Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 1991, 88: 7 209～7 213

60 Ffrench-Constant R H *et al*. A point mutaion in a *Drosophila* GABA receptor confers insecticide resistance. Nature, 1993, 363: 449～451

61 Thompson M *et al*. Conservation of cyclodiene insecticide resistance-associated mutations in insects. Insect Mol., 1993, 2: 149～154

PROGRESS IN TARGET-INSENSITIVE MECHANISM OF INSECT RESISTANCE TO INSECTICIDES

Li Xianchun　　Wang Yinchang

(Department of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095)

Abstract　This paper reviews the current progress of target-insensitive mechanisms (AChE, sodium channel, GABA receptor) of insect resistance to insecticides. The resistant mechanism of AChE to organophosphates and carbamates is a multiple-point mutation in AChE structure gene, resulting in several insensitive AChE isoenzymes. Similarly, the resistant mechanism of GABA receptor to γ-BHC and cyclodiene insectide is one conservative point mutation in receptor structure gene involving a serine to alanine substitution (302), resulting in an insensitive receptor. As for Na^+ channel, a point mutation in structure gene has been found, but whether is it universal and is the gene expression of Na^+ channel involved in pyrethroids and DDT resistance remain to be clarified.

Key words　insect, target-insensitive mechanism, insecticide resistance